

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

⑫ 公表特許公報(A)

平5-507793

⑬ 公表 平成5年(1993)11月4日

⑭ Int. Cl.<sup>1</sup>  
G 01 N 27/447

識別記号

庁内整理番号

審査請求 未請求  
予備審査請求 有

部門(区分) 6(1)

7235-2J  
7235-2J

G 01 N 27/28

331 Z  
316 Z※

(全 9 頁)

⑯ 発明の名称 ミクロ液体構造およびその製造方法

⑰ 特 願 平3-509783

⑱ 出 願 平3(1991)5月8日

⑲ 翻訳文提出日 平4(1992)11月9日

⑳ 国際出願 PCT/SE91/00327

㉑ 国際公開番号 WO91/16966

㉒ 国際公開日 平3(1991)11月14日

優先権主張 ㉓ 1990年5月10日㉔ スウェーデン(SE)㉕ 9001699-9

⑳ 発 明 者 エクストリヨーム, ビヨルン スウェーデン国 752 52 ウプサラ, イェルブグエイエン 27  
㉑ 発 明 者 ヤコブソン, ギュニツラ スウェーデン国 752 57 ウプサラ, スベツツグエイエン 20  
㉒ 発 明 者 オヨーマン, ウーヴェ スウェーデン国 752 24 ウプサラ, ビヨルクガタン43  
㉓ 出 願 人 ファーマシア・ピオセンソル・ スウェーデン国エスー751 82 ウプサラ (番地なし)  
アクチエボラーグ  
㉔ 代 理 人 弁理士 高木 千嘉 外2名  
㉕ 指 定 国 AT(広域特許), BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域特許), FR  
(広域特許), GB(広域特許), GR(広域特許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), S  
E(広域特許), US

最終頁に続く

説 明 書 の 範 囲

1. 第1、第2のほぼ平らな形状安定性基層(1、2)と、弾性材料の中間隔層(3)とを包含し、前記隔層(3)にくぼみが形成されていて、前記第1、第2の基層のうちの少なくとも1つと共にミクロ空所システムまたはチャンネル・システムを構成していることを特徴とするミクロ液体構造。
2. 請求項1記載のミクロ液体構造において、前記隔層(3)の全厚みを貫いてくぼみが設けてあって、空所システムまたはチャンネル・システム(4)の側壁を隔層(3)によって形成し、頂壁および底壁を基層(1、2)によって形成したことを特徴とするミクロ液体構造。
3. 請求項1または2記載のミクロ液体構造において、隔層および少なくとも1つの基層が同じ材料で作ってあることを特徴とするミクロ液体構造。
4. 請求項3記載のミクロ液体構造において、隔層が基層(2)の1つと一体であることを特徴とするミクロ液体構造。
5. 請求項1～4のいずれか1項に記載のミクロ液体構造において、前記基層のうちの少なくとも1つが可撓性であることを特徴とするミクロ液体構造。
6. 請求項1～5のいずれか1項に記載のミクロ液体構造において、前記基層(1、2)のうちの少なくとも1つが剛性であることを特徴とするミクロ液体構造。
7. 請求項1～6のいずれか1項に記載のミクロ液体構造において、前記隔層(3)が基層間のスペース全体を占めておらず、この構造によって構成されるチャンネルまたは空所(4)の壁部材を形成していることを特徴とするミクロ液体構造。

8. 請求項1～7のいずれか1項に記載のミクロ液体構造において、前記構造が毛管電気泳動のためのプレートであることを特徴とするミクロ液体構造。
9. 請求項8記載のミクロ液体構造において、基層(1、2)のうちの1つに配置した検出器手段(7)を包含することを特徴とするミクロ液体構造。
10. 請求項1～9のいずれか1項に記載のミクロ液体構造において、前記構造が、基層(1、2)によって分離された少なくとも2つの隔層(3)を包含し、一方の隔層のチャンネルまたは空所が、中間の基層に設けた孔によって隣の隔層のチャンネルまたは空所に接続していることを特徴とするミクロ液体構造。
11. 第1、第2のほぼ平らな形状安定性基層(1、2)と、弾性材料の中間隔層(3)とを包含し、前記隔層(3)にくぼみが形成されていて、前記第1、第2の基層のうちの少なくとも1つと共にミクロ空所システムまたはチャンネル・システムを構成しているミクロ液体構造を製造する方法であって、(1)所望の隔層幾何学形状に対応するレリーフ・パターンを有する平らな型面を設け、隔層材料をオブションとして第1の基層(2)に取り付けるかあるいはそれと一体に形成する段階と、(2)前記型面に対して隔層(3)を成

形する設障と、(田)型から取り出した後に第2の基層(1)およびオプションとして前記第1の基層(2)を隔離層(3)の両側に取り付けてチャンネルまたは空所システム(4)を完成する設障とを包含することを特徴とする方法。

12. 請求項11記載の方法において、

- a) 所望の隔離層幾何学形状に対応するレリーフ・パターンを有する扁平な型を設ける設障と、
- b) この型に第1基層(2)を取り付ける設障と、
- c) 型面と基層(2)の間に構成されたキャビティに剛性性ポリマー液または熱可塑性ポリマー溶融体を注入する設障と、
- d) 剛性または温度低下によって前記の注入したポリマーを安定化する設障と、
- e) 型から基層/隔離層組立体(2、3)を取り出す設障と、
- f) 前記組立体(2、3)の隔離層(3)に第2の基層(1)を取り付ける設障とを包含することを特徴とする方法。

13. 請求項11記載の方法において、

- a) 所望の隔離層幾何学形状に対応するレリーフ・パターンを有する扁平な型を設ける設障と、
- b) オプションとして第1基層(2)によって支持されるかあるいはそれと一体となっている剛性性あるいは熱可塑性隔離層材料を型に取り付け、この組立体を、オプションとして加熱しながら一緒にプレスす

る設障と、

- c) 剛性あるいは温度低下によって形成済みの隔離層(3)を安定化する設障と、

- d) 型から隔離層構造を取り出す設障と、

- e) この隔離層(3)に第2基層(1)およびオプションとして前記第1基層(1)に取り付ける設障とを包含することを特徴とする方法。

14. 請求項13記載の方法において、設障b)、c)で一体の基層/隔離層部材が製造されることを特徴とする方法。

15. 請求項12～14のいずれか1項に記載の方法において、前記設障が光開始によって行われることを特徴とする方法。

16. 請求項11～15のいずれか1項に記載の方法において、型面の前記レリーフ・パターンが蝕刻によって作られることを特徴とする方法。

17. 請求の範囲第18項記載の方法において、前記型が単結晶シリコンで作ってあることを特徴とする方法。

明 細 書

発 明 の 名 称

マイクロ液体構造およびその製造方法

発 明 の 分 野

本発明は、種々の用途、たとえば、電気泳動装置、毛管クロマトグラフィ、液体分配システム等に用いることのできる改良したマイクロ液体構造ならびにそれを製造する方法に関する。

発 明 の 背 景

近年の電気泳動技術は、毛管電気泳動を開発した。普通の電気泳動法と同様に、充填された分子は、それらの相対的な移動度に基づいて、電界内に隔離され、測定される。毛管電気泳動システムは、基本的には、融解石英毛管からなり、これの内径は約25～100ミクロンである。この融解石英毛管は、緩衝液を満たした2つの溜めを接続している。緩衝液を満たした毛管内で分離が生じ、物質は、毛管を通る集中検方向光線によってUV吸光度またはUV放出蛍光によって検出される。

普通のゲル電気泳動に関して、毛管システムを用いた場合、発熱の低下および改良された冷却効果(横断面に対する周囲面積の比の低下)により、電界強度がかなり高くなり得る。これは、分離速度を高めると共に極めて高い分解能を与える。

しかしながら、延伸ガラスの毛管はいくつかの欠点を有する。なかでも、分岐したシステムを設けることの困難、ならびに特別な表面特性を有する領域を創作するこ

との困難がある。また、極めて細いガラス管を製造することも比較的難しい。さらに、ガラス毛管は、平行チャンネル分析には不適であり、したがって、ほんの少量の体積しか分離できず、分取目的のための分離は非実用的となる。

これらの欠点を克服するために、扁平な構造が開発されたが、この構造では、多数の溝またはチャンネルが並列に作られている。代表的には、このような扁平構造は、半導体基板、たとえばシリコン・ウェファに溝を蝕刻し、次いで蝕刻した表面をカバー・プレートによって覆って電気泳動チャンネルを完成する。しかしながら、このような構造は非常に高価である。さらに、用いる材料が剛性であり、硬質であるから、蝕刻溝の頂縁とカバー・プレートとの間に適切なシールを設けることが難しい。蝕刻基板が半導体であることがほとんどであるから、材料それ自身が電気泳動用途にとっては不適であり、したがって、チャンネル側面に、たとえば酸化あるいは或る種の他の材料による被覆によって絶縁表面層を設けなければならない。

発 明 の 要 要

本発明の目的は、毛管電気泳動に適しており、上記の欠点を持たず、比較的安価に製造でき、オプションとして使い捨て式の製品を可能とし、分岐した流れチャンネルを得ることができ、局部的な表面特性を有し、たとえば表面特性、光学特性および電気特性に関して材料の選択に大きな自由度を与えるマイクロ液体構造を提供するこ

とにある。

本発明の別の目的は、毛管電気泳動に加えて、他の用途、たとえば、毛管クロマトグラフィ、ミクロ反応空所を用いる作業、小型化液体透過ユニット等にも適するミクロ液体構造を提供することにある。

本発明のまた別の目的は、いくつかの平面にチャンネルまたは空所を有し、分析または反応のための複雑なチャンネルまたは空所幾何学形状を構築するのを可能とする多層構造の形をしたミクロ液体構造を提供することにある。

本発明の別の目的は、流れシステムにおいて物質を容易に検出できるミクロ液体構造を提供することにある。

本発明のさらに別の目的は、上記ミクロ液体構造を製造する方法を提供することにある。

したがって、一局面上において、本発明は、形状安定材料の第1、第2のほぼ平坦な基層と、弾性材料の中間隔離層とを包含し、この隔離層にくぼみが設けてあって、前記第1、第2の基層のうちの少なくとも1つと共にミクロ空所またはチャンネル・システムを構成しているミクロ液体構造に関する。

別の局面によれば、本発明は、このようなミクロ液体構造を製造する方法であって、所望の隔離層幾何学形状寸法に対応するレリーフ・パターンを持つ平坦面を有する型を用意し、前記液体流れシステムを設け、型面に隔離層材料を塗布して成形し、この成形をオプションとして重ねる第1基層と一緒にあるいはそれと一体に行い、

第8図は、クランプ手段内に置かれた、第8図に示す構造の部分横断面図である。

第10図は、イオン交換ストリップを包含する基層の別の実施例の概略図である。

第11図は、本発明の毛管電気泳動プレートで実施される電気泳動作業の結果を示すグラフである。

#### 発明の詳細な説明

最も単純な形態において、本発明によるミクロ液体構造は、2つの基層からなり、これらの基層の間には、弾性の隔離材料（基層のうちの少なくとも1つに固着してある）が、所望の液体流れシステム、たとえば1つまたはそれ以上の空所あるいはラビリンス状のチャンネルを形成している。

液体流れシステムを設けるために、隔離層に、その全体の厚さあるいはその一部を貫いてくぼみを設けてもよい。第1の場合、隔離層は、各空所またはチャンネルの側壁および頂、底壁のうちの一方を形成し、基層のうちの1つが頂、底壁のうちの他方を形成するのに対し、別の場合には、基層が頂、底壁を形成し、隔離層が側壁を形成する。隔離層の弾性により、それぞれの基層に対する適切なシールを得ることができる。

その発展形において、本発明の構造は、基層によって分離された2つまたはそれ以上の隔離層を有する「多層層」サンドウィッチ構造からなり、隣り合った隔離層における液体流れシステムが中間の基層に設けた孔によって連絡している。このようにすれば、たとえば複雑な流

型を成形した隔離層から外し、隔離層の成形面に第2基層を塗布してそれと共に液体流れシステムを完成し、先に行っていないならば、前記第1基層を隔離層の反対面に取り付けることを特徴とする方法を提供する。

#### 図面の簡単な説明

上記の目的、特徴および利点は、添付図面に開示した以下の説明および付図の請求の範囲から明らかとなろう。

図面において：

第1図は、本発明による毛管電気泳動プレートの一実施例の平面図である。

第2図は、検出器および電気接触手段を包含する、第1図の構造の基層のうちの1つを示す平面図である。

第3図は、上方に開口した液体チャンネルを構成する隔離層を支持する、第1図の構造の他方の基層の平面図である。

第4図は、第1図の構造の部分横断面図である。

第5図は、本発明による毛管電気泳動プレートの別の実施例である。

第6図は、第3図のものに対応する多数の基層／隔離層組立体の製造を説明する概略図である。

第7A図は、3つの重なった隔離層と中間基層とからなるサンドウィッチ構造の概略横断面図であり、第7B図は、このサンドウィッチ構造を構成するのに用いられる1つの基層／隔離層組立体の横断面図である。

第8図は、一体の隔離層・基層を包含する構造の部分横断面図である。

れチャンネル・システムを形成することができる。このような多層構造は、いくつかの基層／隔離層組立体を重ねることによって形成してもよい。

基層は、形状安定性を持っていないけれども、ここでこの用語が、後述するように比較的広い意味で用いていることは了解されたい。したがって、基層についての以下に述べる目的および要件を考慮したときに容易に明らかとなるように、非弾性材料ばかりでなく中位の弾性材料も考えられる。したがって、基層の目的は、一方では、隔離層を支持すると共にチャンネル壁あるいは空所壁の一部を構成することにある。他方では、XY平面において構造の寸法を維持し、確保することにある。ここで、XY平面とは、基層の延在する平面であり、Zはこの平面に対して直角の方向である。したがって、形状安定性とは、特定の用途によって左右される条件の下ではほんの少しであるが、明確に定められる寸法変化を与える材料に関連したことである。基層表面は、中位の圧力で効果的なシールが行える良好な平滑性を持たなければならない。このことは、たとえば基層を硬くするか、あるいは、平坦であり、できるならば弾性のある表面に可塑性のフィルムを置くことによって達成される。基層（プレート状、シート状、薄板状、薄膜状のいずれでもよい）として適当な材料としては、ガラス、金属、プラスチックであり、プラスチックとしては、たとえばポリエステル、ポリエチレンテレフタレート（たとえば、Eylar）、発泡プラスチック（たとえば、Hostaflo）が

ある。基層における上記の孔（たとえば、サンドウィッチ用途にとって必要である）は、高精度技術、たとえばレーザ穿孔あるいは数値制御式精密機械によって形成される。

上述したように、隔離層の目的は、チャンネルまたは空所の側壁を構成し、Z方向、すなわち平面に対して直角な方向に所望の弾性を与えることにある。したがって、材料は弾性でなければならない。すなわち、好ましくは、ゴムまたはエラストマーである。適当なタイプの材料の一例は、シリコンゴムである。他の特殊な例としては、EPDMゴムおよびHastafionがある。基層／隔離層組立体（後により詳しく説明する）の製造に用いられる方法に依存して、隔離層材料は、成形材料として満足できる性質、たとえば低い粘度および形状収縮性、効果的なシールを得るのに適した硬化要因、たとえばUV光その他の放射線、温度等の他に、適当な硬度を持たなければならない。上記の性質により、精密な型またはダイから安価な重合材料へ正確な幾何学形状・寸法をきわめて精密に複製することが可能となる。このような高精度の型またはダイは、たとえば後述するように、単結晶材料に蝕刻を行うことによって有利に作る事ができる。先に述べたように、隔離層の弾性は、基層と隔離層との間、あるいは、隣り合った隔離層の間に非常に良好なシールを得ることを可能とする。隔離層（安定化されたとき）は、好ましくは、基層に融合され、それと共に空所またはチャンネルを構成するときに適当な表面特性を与える表面特性、た

たとえば、水溶性液を伴う用途のためには親水性-疎水性相互作用を持たなければならない。

しかしながら、2つの基層および中間隔離層からなる本発明の基本的な構造に関して、基層と隔離層の両方についての要件を同時に満たす材料があることは容易に理解できよう。隔離層および基層のうちの一方または両方を同じ材料で作ってもよい。この場合、隔離層と1つの基層を、後述するように、一体としてもよい。もちろん、上述の多層構造も、このような一体の基層／隔離層ユニットから構成することができる。この点で利用できる材料の一例は、Hastafionである。

好ましくは、隔離層は、2つの基層によって囲まれた全空間を満たさないが、その構成するチャンネルまたは空所に充分な壁厚を与える程度には満たしていなければならない。したがって、たとえば巻き型チャンネルの場合、それを構成している隔離層材料は、同じ巻き型を有するが、横断面積は広くなる。このようにして、より小さいシール面積が得られ、それによって、所与の表面圧力に適用するのに必要な全シール力をより低くすることができる。

隔離層の弾性は、また、Z方向、すなわち基層、隔離層平面に対して直角の方向に作用する力の変化に応じてポンプまたは弁の作用を構造に与えるのにも用いることができる。上述したように、構造を圧縮してポンプ作用を得るのに必要な力が低ければ、それだけ隔離層の広がり小さくすることができる。

前述のように、隔離層に必要なくぼみ形成は、本発明によれば、扁平な型、たとえばシートまたはプレートに隔離層を形成することによって達成される。この型は、隔離層が持つことになっている所望の幾何学構造の負の形をしているレリーフ・パターンを設けた成形面を有する。たとえば、この型は、シリコン、石英、セラミック、金属またはプラスチック材料（たとえば、PEBAまたはTeflon®）の基板に蝕刻、表面被覆、レーザ加工、電気化学蝕刻、機械加工を施すことによって製作される。隔離層を形成するために用いる型は、もちろん、前述あるいは成形によってマスク型から作ったレプリカであり得る。

このような型を製造するのに好ましい方法は、蝕刻である。それ故、選ばれる材料は、シリコンまたは石英のような単結晶物質、あるいは、II/V群の物質、たとえば酸化ガリウム、すなわち、明確な表面を気相または液相で化学処理することによって製造し、このような形成法に必要な圧力および温度に耐える機械的／熱的特性を有するような構造／組成を有する材料である。好ましい材料は単結晶シリコンである。

表面に所望のレリーフ・パターンの蝕刻は、公知の方法、すなわち、蝕刻ストップ層を（通常は、酸化によって）基板に設け、感光層（フォトレジスト）を被覆し、所望のレリーフ・パターンを構成するマスクを通して表面を露光し、露光した領域を現像してフォトレジストを除去し、これらの領域に後の蝕刻ストップ層を露出させ、

残っているフォトレジスト・マスクを除去し、最後に、後の基板表面領域を所望の深さに蝕刻することによって行われ得る。

隔離層の成形は、種々の方法で実施できる。たとえば、一実施例において、隔離層は、刻印、圧印、エンボッシングを伴う圧縮成形作業によって形成される。この場合、隔離層材料（オプションとして基層に取り付けるかあるいはそれと一体となっている）は型面に取り付けられ、この組立体を外力によって一様にプレスする。材料が熱可塑性である場合、その粘性は、温度の上昇につれて低下し、隔離層に形成されたレリーフ・パターンは、温度の低下につれて固定あるいは安定化する。隔離層を安定化する他の方法としては、たとえばUV照射、触媒、熱等による架橋結合がある。この場合、隔離層材料は、架橋性液体、たとえば、シリコンゴムの層であり、これを基層の表面に被覆する。

別の実施例において、隔離層は、射出成形法によって形成する。この場合、基層は、型面に取り付け、基層および型を外力によって一様にプレスする。架橋性液体、たとえばシリコンゴムを、次に型キャビティに押し込み、その後に、適当な架橋手段、たとえばUV光によって架橋される。あるいは、冷却によって安定化されたときに、熱可塑性重合溶融体を注入して隔離層を形成する。

隔離層の高価または安定化が完了したとき、基層／隔離層組立体を型から取り出す。形成した隔離層の型から

の形状を容易にするために、成形作爲前に、型を離型剤、たとえば液相のフルオロテンシドあるいは気相のフルオロポリマーで処理すると好ましい。

型からの取り出し後、第2の基層を隔離層に取り付けて所望の空所またはチャンネル・システムを完成する。オプションとして、この第2の基層は、後により詳しく説明するように、適当な手段によって隔離層に共有結合あるいは別の方法で結合する。

隔離層と基層の間に最適なシールを得るためには、特定の用途に使用する時点で、組立体を、それに圧縮力を加えることのできる平らな面の部材の間に置く。このようなクランプ手段は、上述したポンプ作用を組立体に行わせるのにも使用できる。

電気泳動の目的のためには、第2基層が、その各端に接触手段、たとえば金のストリップを備えると共に、換出手段あるいは少なくともその準備手段を備えると有利である。この場合、この第2基層は、再使用可能であると好ましく、隔離層を取り付けた第1基層が使い捨て式であり、第2基層から分離でき、使用後に、第2基層に新しい基層／隔離層組立体を容易に設けることができるようにすると好ましい。

上述したように、本発明のマイクロ液体構造は、もちろん、電気泳動以外のマイクロ液体目的のために有利に設計することもできる。たとえば、毛管クロマトグラフィ、マイクロ反応空所、小型液体運送ユニット、バイオセンサ・フロー・セル等がある。本発明による反応空所は、

の基層／隔離層組立体を基層1に取り付けることによって形成される。隔離層3の弾性により、基層1に対する効果的なシールを得ることができる。表面特性（その重要性については先に説明した）に合わせることによって、基層1と隔離層3を互いに接合するのに充分な接着性を得ることができる。しかしながら、或る種の材料の組み合わせに対しては、にかわ付けが必要かも知れない。

或る特殊な非限定例では、第1図の電気泳動プレートの特に参照して、基層はガラスであり、長さ60mm、幅20mm、厚さ約0.5mmである。隔離層3は、シリコン、General Electric 870 (General Electric Company)で作っており、ショア硬度90、幅1mmである。チャンネル4の長さは100mmであり、幅250ミクロンである。チャンネル深さ、すなわち、隔離層の厚さは、50ミクロンであり、体積は1.25マイクロリットルである。電極8、9（金で作る）は幅50ミクロンであり、間隔は50ミクロンである。基層2（ポリエステル）は12×40mmであり、厚さは約0.2mmである。

第1図に示す毛管電気泳動プレートで電気泳動分離を行うために、それを2つの平らな面の間に置き、適切な力を加えてプレートを相互に密封サンドウィッチ状態に保持する。チャンネル4には、一端に液滴を加え、真空によってチャンネル内に吸引することによって電気泳動緩衝剤を満たす。次に、サンプルを、オプションとして、ポンプのような弾性構造を使用するか、あるいは蒸餾イオン交換樹脂を使用するかして、チャンネルに塗布する。

たとえば種々の固相合成形、たとえば2、3の例を上げれば、ペプチドまたはオリゴヌクレオチド合成、PCR、DNA-固相逐次反応のために使用できる。

第1図は、本発明による毛管電気泳動プレートを示している。これは、第1の基層1と、第2の基層2と、これらの基層1、2の間に配置した弾性隔離層3とからなる。隔離層3にはくぼみを付けてチャンネル4を構成している。明瞭な図示のためにのみ、ここでは基層2は透明としてある（第1、3図）。

基層1は、形状安定材料、すなわち、非弾性あるいは中位の弾性の材料、たとえばガラスで作っており、その各端部には、たとえば金フィルムからなる電極ストリップ5、6が設けてある。図示のケースでは、基層1は、たとえば一対の金電極8、9の形をした導電性換出手段7も備えている。これらの金電極は、チャンネル4を横切って配置され、基層の両側で、たとえば金の接触片10、11から延びている。

弾性の隔離層は、第3図に示すように、第2の基層2、たとえばポリエステル・フィルムに取り付けてある。図示ケースでは、隔離層3は、チャンネル4を形成したラビリンス状構造である。第3図において、隔離層3は基層2の底に取り付けてあり、したがって、チャンネル4は下向きに開いている。チャンネルの頂蓋は基層2によって構成されている。隔離層3は、たとえばシリコンゴムで作ることができる。

第1図に示すような毛管電気泳動プレートは、第3図

これについては後述する。第1図に点線12、13で示す緩衝剤浸透濾紙片をチャンネル4のそれぞれの端に貼り、チャンネルと接触ストリップ5、6の間を接触させ、外部からの電気泳動電圧を印加する。分離プロセスは検出器7によって監視する。

第5図は、第1図の毛管電気泳動プレートの変形を示す。この図示実施例では、チャンネル4の各端を閉ざし、代わりに、チャンネルは、隔離層を支持する上方基層2aに形成した孔14、15に開口する。下方の基層（ここでは参照符号1aで示してある）には接触ストリップはない。緩衝剤は、たとえば、各孔14、15の上方に設置した、少量の緩衝剤を満たした容器から供給され得る。外部電圧場を印加するためにこれらの容器内に電極が浸漬してある。

隔離層3は、たとえば、チャンネル4を含むラビリンス状隔離層構造に対応するレリーフ・パターンを有する扁平な型に基層2を取り付けることによって製作することができる。次に、シリコン材料を型キャビティに注入し、こうして形成された隔離層を引き抜いてUV照射によって硬化させる。型から取り出した後の、基層2によって支持された隔離層3を第3図に示す。

たとえば、特殊な例として説明した材料および寸法について上述した隔離層3を取り付けた複数の基層2の製造プロセスの概略が第8図に示してある。この図は、横に並んだ7つの隔離層3に相当する或るパターン16の両端を有する型面を説明することを意図している。

所望の型パターンを有する型プレートは、たとえば、次のようにして製造できる。

シリコン・プレートの表面を1100℃でオーブン内で酸化させて充分な厚さ、たとえば約8000オングストロームの酸化物層を形成する。オーブン内で洗浄し、脱水洗し、ヘキサメチルシランで下塗りした後、スピニングによってフォトレジスト層を塗布し、ベーキングによって安定化させる。所望の型パターンに対応するマスクをプレート表面に置いてから、非被覆部分を露光する。露光したフォトレジスト部分は、現像液で除去し、酸化物層を露にし、残っているフォトレジスト・マスクを硬焼きする。露にされた酸化物を、次に、昇化水素酸/昇化アンモニウムで蝕刻してシリコンを露出させる（プレートの表面は、たとえば耐久テープによって保護されている）。次に、フォトレジスト・マスクを適当な溶媒、たとえば、アセトンによって除去する。次に、所望の深さを得るに充分な時間にわたって、酸化物のないシリコン領域を水酸化ナトリウムによって蝕刻する。こうしてできた型面は所望パターンの溝16を有する。

基層/隔離層ユニット2、3を製作するために、たとえばポリエステル（ここでは、透明なものとして示してある）のフィルムまたはシートを型面上に置く。好ましくは、これは、離型剤で型面およびフィルムを処理した後に行う。次に、圧力、たとえば4バールの圧縮空気を加え、シリコンゴム（たとえば、General Electric Companyの供給するRTV 670）のような弾塑性液体を入口

る。第8図において、参照符号21は、チャンネル22を構成する一体の基層/隔離層部材を示し、23は、第2の基層を示している。

第8図に示す実施例は、たとえば、次のようにして製作できる。

所望のレリーフ・パターンを有するシリコン型プレートを、まず上述したように、単一の隔離層についても、あるいは、好ましくは第6図におけるように複数の隔離層についても製作する。次に、300~500 $\mu$ mのHostafionフィルム（Hostafionは、ドイツ国のBösch AGの供給する熱可塑性強化エラストマーである）をシリコン型面に取り付ける。オプションとして、この前に、離型剤を塗布する。次に、滑らかなシリコン・プレートを、すなわち、何らレリーフ・パターンのないシリコン・プレートをフィルムの上にに取り付けてHostafionフィルムを挟み込む。次に、金板をそれぞれのシリコン・プレートの外面に取り付ける。次いで、このサンドウィッチをプレス装置内に置き、圧力（10~50kg/cm<sup>2</sup>）を加え、金板を電圧源に接続してサンドウィッチを約150℃まで電気加熱する。それによって、Hostafionフィルムが軟化し、型面パターンがプラスチック・フィルムに刻印あるいは圧印される。次に、電圧源を遮断し、サンドウィッチを冷却する。型から取り外した後、基層/隔離層ユニットは、第8図に概略的に示すものに対応する横断面を有し、隔離層が厚さ約50 $\mu$ mのチャンネルを構成する。次に、圧印していないHostafionフィルム層を第2基層

17を通して導入し、これを液体が出口18から流れるまで脱ける。UV光で光硬化させた後、基層シートを型から取り出し、型に取り付ける前にまだ行っていないならば、個々の基層部分（各々が基層2を構成する）に切断する。参照符号20は、第1図の図紙8、9の蝕刻剤がチャンネルから構造内に入るのを防ぐ方向止めストリップ（第1図には示していない）を示している。

第3図に示す、基層2とこれによって支持された隔離層3とからなる構造は、第7A図に概略的に示すような多層層構造を構成するのに使用できる。第7A図は、第7B図に示す3つの重なった隔離層/基層組立体を示している。このようにして、反応および分析のための非常に複雑なチャンネル幾何学形状を構成することができる。隣り合った隔離層3のチャンネルは、それぞれの基層に設けた孔によって接続していてもよい。チャンネルの端は、第5図の基層2aのように閉じてある。

第1、5図に示す電気泳動プレートにおいて、隔離層3を取り付けたより小さい基層2、2a（使い捨てできると有利である）は、検出器手段7を備えたより大きい基層1から容易に切り離すことができるが、新しい基層/隔離層組立体2、3は、基層1（2つの構成要素のうちの面積の広い方）に取り付けることができる。

上述の構造に関連して、特に第4図に関連して、隔離層3および2つの基層1、2のうちの一方の基層は、一体であってもよい。すなわち、同じ材料から一体部材として製作してもよい。これが第8図に概略的に示してあ

として取り付けて構造を完成する。このフィルムは、好ましくは、平らなシリコン・プレートの間で上述したように熱/圧力処理されて滑らかな接触面を与えられている。次に、オプションとして、液体通過孔（第5図に14で示す）を穿孔する。

第9図は、クランプ部材24、25の間に挿入されて構成要素21、22、23間を効果的にシールする第8図の基層/隔離層ユニット21、22を示している。上方のクランプ部材24は、チャンネルに液体を導入するための、たとえば、第5図に関連して説明した電気泳動プレートの場合には、蝕刻剤を導入するための、孔27を通して隔離層チャンネル22と連通する容器くぼみ26を包含する。

従来の毛管電気泳動と比較して、本発明による電気泳動プレートはいくつかの利点を有する。たとえば、毛管構造のための分岐した入口、出口を設けるのが容易となり、これがまた、毛管チャンネル構造の一端でチャンネル部分においてサンプルの等速回転電気泳動機構を行ったり、留分の回収や接続電解液の交換のような作業を可能とする。また、分取用途も考えられる。

図面に示し、先に説明したような矩形横断面の毛管チャンネルを有する電気泳動プレートは、さらに検出の観点から非常に有利である。普通の毛管電気泳動に比べて、個々の検出器システムを配置するのはかなり容易となる。その一例が上述した導電性検出器である。別の例としては、UV検出器がある。この場合、チャンネルは、チャンネル底（図示例では、基層1または1a）の1つまたは

それ以上の「窓」、すなわちUV透過部分を備えることにより、このような窓は、チャンネルの底を構成している透明な基層を金属化して所望の位置に透明な開口または窓を設けることによって設けることができる。次に、UV光源で照明することによって検出を実施する。チャンネルの入口部分に上述のような窓を配置することによって、サンプル注入量を知ることができる。オプションとして、UV検出器のような検出器をチャンネルの全長にわたって配置し、それによって、チャンネル内のサンプル物質の移動を連続的に監視することができる。別の配置では、チャンネル底に向かって開口する複数の光ファイバを用いて検出器アレイに光を送り、チャンネルの全部または一部を連続的に監視することができる。もちろん、他のタイプの検出器も可能である。容易に理解できるように、上述した検出原理は、電気泳動以外の用途、たとえばクロマトグラフィにとっても価値がある。

隔離層の弾性により、さらに、「サンドウィッチ」を一緒に保持する力を高めることによって実施されるポンプ作用でナノリットルのサンプルを注入することも可能となる。また、プレート構造により、たとえばイオン交換器の或る領域で電気泳動チャンネル内のサンプル分子を濃縮することも可能となる。このようなイオン交換器領域を設ける一例が第10図に示しており、この図は、第1、2、5図の基層1に相当する基層の具体例を示している。図示したように、基層28は、検出器電極29、30に加えて、イオン交換器材料の薄いストリップ31を有する。

たとえば、第5図の電気泳動プレートで電気泳動を実施するとき、ストリップ31はチャンネル4内にあり、チャンネルを通して付与される適当な緩衝剤内のサンプルは、まず、イオン交換器ストリップ31内で濃縮される。その際に、電気泳動緩衝剤が導入されてチャンネル4内の余剰のサンプルを除去する。サンプルは、次に、電気泳動よいるとまたはそれによって発生したpHシフトによって脱着される。

第11図は、上述したように蝕刻したシリコン面について刻印を行うことによって製作したHostafion 電気泳動プレートで実施した、Sec II を持つφ1174の制限ダイジェストの電気泳動において得られた電気泳動図である。チャンネルの全長は50mmであり、幅は250μmであり、高さは50μmであった。使用にあたって、プレートをクランプ手段の平坦な表面の間で、全体で約100Nの力の下に締め付けた。分離チャンネルは、希イオン洗剤で親水化し、分離緩衝剤として10%酢酸ポリアクリルアミドを調製し、緩衝剤としてはTris-borate (pH8.3) を用いた。注入は、5 sec/700Vの界面動電であり、全電位降下は、700Vであった。検出は、250nmのUVによって行った。

もちろん、本発明は、上述し、図示した特定の実施例に限定されるものではなく、添付の請求の範囲に記載したような総括的な発明概念の範囲内で多くの修正、変更をなし得る。

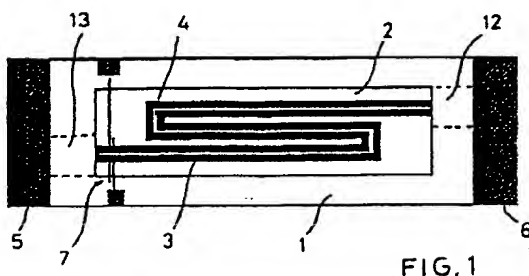


FIG. 1

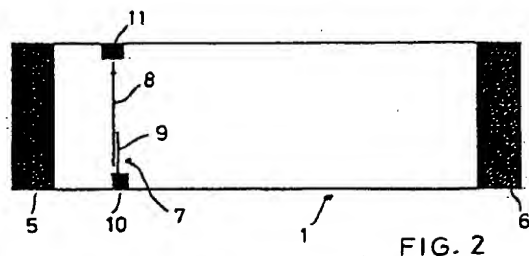


FIG. 2

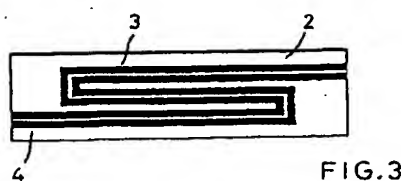


FIG. 3

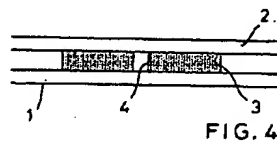


FIG. 4

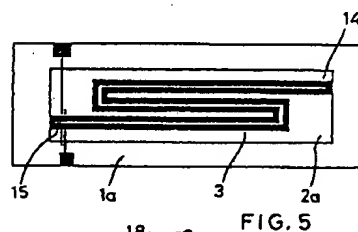


FIG. 5

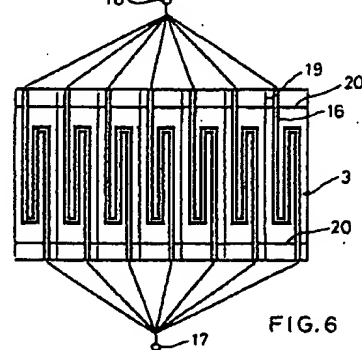


FIG. 6



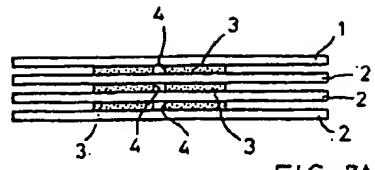


FIG. 7A

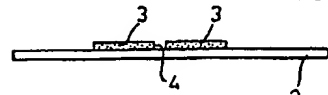


FIG. 7B

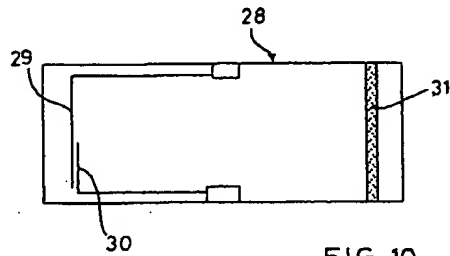


FIG. 10

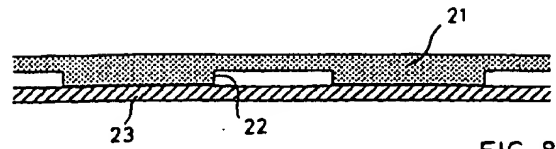


FIG. 8

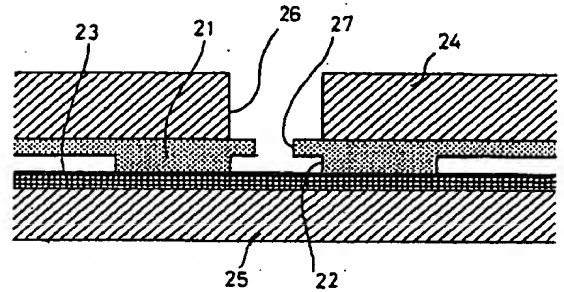


FIG. 9

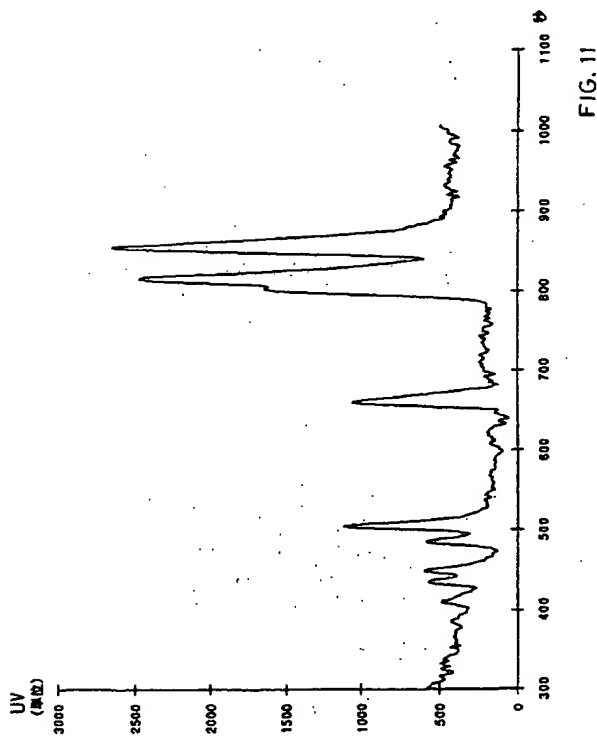


FIG. 11

要 約

マイクロ液体構造は、第1、第2のはぼ平らな形状安定性基層(1、2)と、弾性材料の中間隔離層(3)とを包含し、前記隔離層(3)にくぼみが形成されていて、前記第1、第2の基層のうちの少なくとも1つと共にマイクロ空所システムまたはチャンネル・システムを構成している。この構造は、オプションとして第1基層(2)に取り付けられるかあるいはそれと一体にした隔離層を扁平な型に対して成形することによって製造され、マイクロ空所システムまたはチャンネル・システムは、第2基層(1)およびオプションとして前記第1基層(2)を隔離層(3)に取り付けることによって完成する。

## 国際調査報告

International Application No. PCT/SE 91/00327

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (in concise statement symbols only, optional)		
IPC: B 01 D 57/02, G 01 N 27/26, G 01 L 3/00		
A. ENGLISH ABSTRACT		
Classification Scheme	International Classification	
IPC	G 01 N; B 01 L; B 01 D; B 29 C	
ST, DK, FI, NO classes as above		
2. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT*		
Category	Character of Document <sup>1)</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>2)</sup>	Referred to Claim No. <sup>3)</sup>
A	EP, A1, 0010456 (EASTMAN KODAK COMPANY) 30 April 1980, see the whole document	1-17
A	US, A, 4900663 (S.I. VIE ET AL) 13 February 1990, see Figure 4	1-17
A	EP, A2, 0347579 (MESSERSCHMITT-BÖLCKH-BLOHM GESELLSCHAFT MIT BESCHRÄNKTER HAFTUNG) 27 December 1989, see page 3, column 4, line 3 - line 26; figure 6	1-17
A	EP, A2, 0107631 (BIFOK AB ET AL) 2 May 1994, see page 6, line 20 - page 6, line 6; figure 1	1-17
<p>* Symbols categories of cited documents: <sup>1)</sup> "A" International patent application or patent document in which the invention is claimed; "B" Published document not subject to or prior to the patent; "C" Document which may have priority or be subject to a patent; "D" Document which is not subject to a patent; "E" Document which is not subject to a patent; "F" Document which is not subject to a patent; "G" Document which is not subject to a patent; "H" Document which is not subject to a patent; "I" Document which is not subject to a patent; "J" Document which is not subject to a patent; "K" Document which is not subject to a patent; "L" Document which is not subject to a patent; "M" Document which is not subject to a patent; "N" Document which is not subject to a patent; "O" Document which is not subject to a patent; "P" Document which is not subject to a patent; "Q" Document which is not subject to a patent; "R" Document which is not subject to a patent; "S" Document which is not subject to a patent; "T" Document which is not subject to a patent; "U" Document which is not subject to a patent; "V" Document which is not subject to a patent; "W" Document which is not subject to a patent; "X" Document which is not subject to a patent; "Y" Document which is not subject to a patent; "Z" Document which is not subject to a patent.</p>		
3. CERTIFICATION		
Date of the Search Report of the International Bureau	Date of Filing of the International Search Report	
24 July 1991	1991-07-30	
International Searching Authority	Signature of International Searcher	
SWEDISH PATENT OFFICE	[Signature]	

## 国際調査報告

PCT/SE 91/00327

This document is the official Swedish translation of the patent document filed in the Swedish Patent Office. The Swedish Patent Office is not responsible for the accuracy of the translation. The Swedish Patent Office is not responsible for the accuracy of the translation.

Search document (date of search report)	Publication date	Patent number (number(s))	Publication date
EP-A1- 0010456	80-04-20	AT-T- 1366 CA-A- 1129498 US-A- 4284053 AT-T- 4840 CA-A- 1119831 CA-A- 1129059 EP-A-B- 0010457 EP-A-B- 0014797 JP-C- 1196515 JP-C- 1248146 JP-A- 5305335 JP-A- 53071942 JP-A- 53074462 JP-B- 56026366 JP-B- 56021501 US-A- 4233029	82-08-15 82-08-10 81-03-03 83-08-15 82-03-16 82-10-05 80-04-30 80-09-03 84-03-21 85-01-16 86-05-02 86-05-20 86-06-05 83-06-06 84-05-21 86-11-11
US-A- 4900663	90-02-13	AU-B- 594948 AU-D- 5443296 DE-A- 904395 CA-A- 1218626 CH-A-B- 671... DE-A- 3806124 FR-A- 2587488 GB-A-B- 2180845 JP-A- 52071938 NL-A- 8603305 SE-A- 8600454	90-05-22 87-02-19 88-06-30 89-08-22 89-08-31 87-03-19 87-03-20 87-04-01 87-04-02 87-04-01 87-03-14
EP-A2- 0347579	89-12-27	DE-A- 3818614 DE-A- 3845907	89-12-07 90-02-01
EP-A2- 0107631	84-05-02	JP-A- 59083047	84-05-14

第1頁の続き

⑥Int. Cl.<sup>9</sup>

識別記号

庁内整理番号

B 01 D 57/02  
B 01 L 3/00  
G 01 N 30/60

7726-4D  
7351-4G  
8506-2J

A

⑦発明者 シエーディン, ホーカン

スウェーデン国 752 40 ウプサラ, リンツベルグスガタン 3  
ペー